

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.895.121

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАВИСИМОСТИ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ  
ПЛЕРОЦЕРКОИДОВ *TRIAENOPHORUS NODULOSUS*  
И *DIPHYLLOBOTHRIUM LATUM* ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ

А. Я. Дубовская

Лаборатория гельминтологии АН СССР, Москва

Исследована зависимость активности аргиназы плероцеркоидов *T. nodulosus* и *D. latum* от температуры. Показано, что свойства (температурный оптимум, термостабильность) фермента на стадии личинки преадаптированы к температурному гомеостазу окончательного хозяина.

Влияние температуры на изменение функций ферментов представляет большой интерес для исследователей, изучающих биохимические и физиологические адаптации организма. Ряд исследователей (Александров, 1975; Хочачка и Сомеро, 1977) указывают на адаптивную реакцию ферментов пойкилотермных животных к температуре среды обитания. Гельминты представляют в этом плане интересную группу животных со сложным циклом развития. С одной стороны, взрослые формы гельминтов, паразитирующие у теплокровных хозяев, живут при постоянной температуре, с другой стороны, их личиночные формы, находящиеся во внешней среде или у пойкилотермных промежуточных хозяев, подвергаются резким колебаниям температуры, к которым они должны приспособиться.

Нужно отметить, что температурные зависимости активности ферментов гельминтов являются мало изученными. В литературе имеется всего несколько работ, посвященных этому вопросу. Так, Низами с соавторами (Nizami e. a., 1975) обнаружили, что при температуре ниже 40° неспецифическая фосфомоноэстераза трематод рыб проявляет большую активность по сравнению с ферментами трематод птиц.

Шишова-Касаточкина и другие (1976), Сохина, Колоскова (1978) показали, что оптимальные кинетические и термодинамические характеристики (энергия активации, константа скорости) ферментов аргиназы и уреазы нематоды *Contracaecum aduncum*, обитающей у рыбы, соответствуют зоне низких температур, тогда как у нематоды *Ascaridia galli* от кур — зоне более высоких температур.

Учитывая существенную роль фермента аргиназы в обмене паразитических червей (Шишова-Касаточкина, Леутская, 1979; Kugeles, 1975), а также тот факт, что свойства этого фермента исследованы крайне недостаточно, мы предприняли сравнительное изучение температурной зависимости аргиназы у плероцеркоидов цестод *Triaenophorus nodulosus* и *Diphyllbothrium latum*. Исследование температурной зависимости активности аргиназы у названных плероцеркоидов представляет интерес, поскольку взрослые формы исследованных цестод паразитируют в различающихся температурных условиях. Окончательным хозяином *T. nodulosus* являются рыбы. *D. latum* в онтогенезе меняет холоднокровного хозяина (рыбу) на теплокровного (млекопитающих) и тем самым адаптируется к новому температурному режиму.

**Материалы и методы.** Исследования проводили в Медвежьегорском р-не Карельской АССР во время весенне-летнего сезона 1978 и 1979 гг. Гельминтологический материал получали из спонтанно зараженных рыб, отловленных в оз. Остер. *D. latum* извлекали из полости тела щук, а *T. nodulosus* — из печени налима. Личинок промывали раствором Рингера для холоднокровных, высушивали на фильтровальной бумаге, замораживали при -4°, затем гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с глициновым буфером (рН 9.4).

Активность аргиназы определяли в гомогенатах по методу Храмова и Галаева (1971). Количество образовавшейся мочевины определяли с помощью тиосемикарбазидной модификации реакции Фирона, предложенной авторами. Пробы калориметрировали против контроля на ФЭК-56М с зеленым светофильтром (длина волны 540 нм). Активность аргиназы выражали в мкг мочевины на мг белка. Концентрацию белка измеряли по методу Лоури (Lowry e. a., 1951). Активность аргиназы определяли за 10, 20, 30 мин при температурах 17, 27, 37, 47, 57°.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты представлены на рис. 1 и 2. Как видно из рисунков, температура по-разному влияет на активность аргиназы плероцеркоидов *T. nodulosus* и *D. latum*, несмотря на то что и в одном, и в другом случаях хозяином плероцеркоидов являются рыбы, обитающие в близких температурных условиях. Так, мы обнаружили, что у *T. nodulosus* максимальная активность аргиназы проявляется при 27°, тогда как у *D. latum* — при 57°. Максимальные константы скорости расщепления аргинина соответствуют названным температурам. Интересно сравнить изменения во времени активности аргиназы *T. nodulosus* при 37°. Данная температура для большинства ферментов считается температурным оптимумом. Как видно из рис. 1, за 10 мин активность

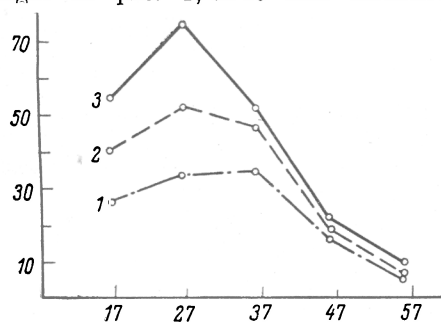


Рис. 1. Зависимость активности аргиназы плероцеркоидов *Triclaenophorus nodulosus* от температуры.

По оси абсцисс — температура (в °C); по оси ординат — ферментативная активность (в мкг мочевины/мг белка), измеренная: 1 — за 10 мин, 2 — за 20 мин и 3 — за 30 мин.

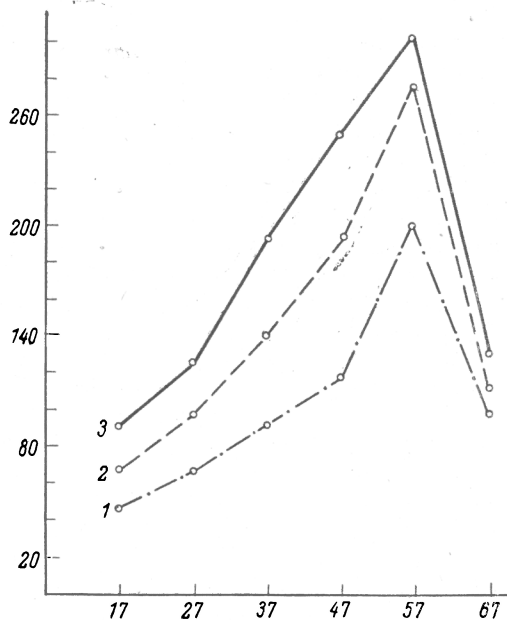


Рис. 2. Зависимость активности аргиназы плероцеркоидов *Diphyllbothrium latum* от температуры.

По оси абсцисс — температура (в °C); по оси ординат — ферментативная активность (в мкг мочевины/мг белка), измеренная: 1 — за 10 мин, 2 — за 20 мин, 3 — за 30 мин.

аргиназы при 37° незначительно превышает активность аргиназы за то же время при 27°, однако в дальнейшем не наблюдается возрастания активности в зависимости от времени. За 30 мин при 37° активность аргиназы значительно ниже, чем за то же время при 27°. Эти результаты указывают на то, что уже при 37°, видимо, появляются частичные изменения фермента аргиназы плероцеркоидов *T. nodulosus*. Хоча и Сомеро (1977) отмечают, что при температуре 37° не происходит полная денатурация «эктотермных» ферментов, однако их третичная и четвертичная структуры, возможно, несколько изменяются, что отражается на функциях фермента, зависящих от специфической геометрии белковых молекул. При 47° происходит резкое снижение активности аргиназы. Видимо, имеет место денатурация белка. При 57° реакция практически не идет.

Напротив, в *D. latum* мы наблюдали нарастание активности, начиная с 17 до 57°. Активность аргиназы начинала снижаться только при 67°.

Представляется интересным в связи с полученными нами результатами рассмотреть работы В. Б. Вернберг и Ф. Я. Вернберг (Vernberg, Vernberg, 1961). Авторы показали, что интенсивность дыхания личинок трематод рыб увеличивается при увеличении температуры до 36°, затем резко падает. У личинок трематод птиц наблюдается увеличение скорости дыхания при увеличении температуры до 41°. Кроме того, Вернберг и Вернберг (1974) показали, что личинки трематод, заканчивающие свое развитие у птиц, легче переносят повышение температуры, чем виды, достигающие половозрелости у рыб. Аналогичные данные по изучению выживаемости личинок некоторых цестод были получены Стражнич (1979). Зависимость активности ферментов гельминтов от температуры при этом не изучалась.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что температурный оптимум аргиназы плероцеркоидов *T. nodulosus*, взрослая форма которых паразитирует у рыб, сдвинут в сторону низких температур (27°), тогда как у плероцеркоидов *D. latum* — в сторону высоких температур (57°). Резкое падение активности аргиназы *T. nodulosus* при 47° указывает на то, что она менее термостабильна по сравнению с аргиназой *D. latum*.

Исходя из полученных нами результатов, можно сделать вывод о том, что свойства фермента аргиназы (температурный оптимум, термостабильность) уже на стадии плероцеркоида преадаптированы к температурному режиму дефинитивного хозяина. На наличие у гельминтов преадаптации на молекулярном уровне указывают работы В. Б. Вернберг, Ф. Я. Вернберг (1961, 1974), Барет и Фербайрн (Barret, Fairbairn, 1971), а также Сидорова и Смирнова (1980).

Пока трудно сказать, за счет каких механизмов осуществляется преадаптация ферментных систем гельминтов к температуре. С одной стороны, возможно, имеют место различия в структуре молекул фермента изученных плероцеркоидов, определяющие температурную зависимость. С другой стороны, плероцеркоиды *D. latum* могут содержать смешанный набор изоферментов аргиназы, включающий варианты, специфически приспособленные для работы в различных диапазонах температур.

Барет и Фербайрн (1971) проследили изменение изоферментного спектра малатдегидрогеназы в онтогенезе *Ascaris lumbricoides*. Было показано, что 1-дневные яйца, развивающиеся во внешней среде, где температура не превышала 32°, имеют одну малатдегидрогеназу, тогда как инвазионные яйца (21-дневные) и мышцы взрослых *Ascaris* имеют 3 дегидрогеназы. Инвазионные яйца развиваются при тех же температурных условиях, что и 1-дневные, однако они должны быть готовы в любой момент начать инвазионный процесс в теле хозяина при относительно высокой температуре (38—40°). Авторы считают, что хотя у инвазионной личинки и имеется полный набор изоферментов, однако функционировать они начинают в последующей стадии в организме хозяина.

В случае *D. latum* при смене хозяев температура также резко меняется. Плероцеркоид в считанные минуты из среды с температурой 10—15° (рыба) попадает в условия с постоянной высокой температурой 38—40° (млекопитающие). Мы полагаем, что плероцеркоиды *D. latum* содержат несколько изоформ аргиназы, что дает им возможность быстро приспособиться к новым температурным условиям.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено. 1. Температурный оптимум аргиназы плероцеркоидов *T. nodulosus* (окончательный хозяин — рыбы) находится при 27°, тогда как у плероцеркоидов *D. latum* (окончательный хозяин — млекопитающие) — при 57°. 2. Свойства ферментов (температурный оптимум, термостабильность) на стадии плероцеркоида преадаптированы к температурному гомеостазу окончательного хозяина.

#### Л и т е р а т у р а

- Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л. Наука, 1975. 328 с.
- Сидоров В. С., Смирнов Л. П. Жирнокислотный состав некоторых гельминтов холоднокровных и теплокровных позвоночных. — ЖЭБиФ, 1980, т. 16, № 6, с. 551—555.
- Сохина Л. И., Колоскова Т. Г. Активность ферментов аргиназы и уреазы как фактор приспособления нематод к паразитированию. — Тр. ГЕЛАН, 1978, т. 28, вып. 6, с. 153—157.
- Стражник Л. В. Кэпизоотологии цестодозов рыб в условиях повышенного температурного режима. — В кн.: Матер. Всесоюз. науч. конф. по направлению и интенсификации рыбоводства во внутренних водоемах Северного Кавказа. Ростов-на-Дону, М., 1979, с. 211—213.
- Ушаков Б. П. Теплоустойчивость клеток животных. М.—Л., 1965. 516 с.
- Хочачка П., Сомеро Д. Стратегия биохимической адаптации. М., Мир, 1977. 398 с.
- Храмов В. А., Галаев Ю. В. Распространение аргиназы у микробов. — Лаб. дело, 1971, вып. 1, с. 50—53.
- Шишова-Касаточкина О. А. Исследование белкового обмена у гельминтов. — Тр. ГЕЛАН, 1976, т. 26, с. 196—211.
- Шишова-Касаточкина О. А., Леутская З. К. Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. М., Наука, 1979. 278 с.
- Barret J., Fairbairn D. Effects of temperature on the kinetics of malate dehydrogenases in the developing eggs and adult muscle of *Ascaris lumbricoides*. — J. exp. zool. 1971, Vol. 76, N 2, p. 169—177.
- Kurelec B. Catabolic path of arginine and NAD regeneration in the parasite *Fasciola hepatica*. — Comp. Biochem. Physiol., 1975, vol. 51B, p. 151—156.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. — J. Biol. Chem., 1951, vol. 1, p. 265—267.

- N i z a m i W. A., S i d d i q i A. H., Y u s u f i A. N. Non specific alkaline phospho-  
monoesterases of eight species of digenetic trematodes. — J. Helminthol., 1975, vol. 49,  
N 4, p. 281—287.
- V e r n b e r g W. B., V e r n b e r g F. J. Studies on oxygen consumption in digenetic tre-  
matodes. The influence of temperature on larval trematodes. — Exp. Parasitol., 1961,  
vol. 2, p. 270—275.
- V e r n b e r g W. B., V e r n b e r g F. J. Metabolic pattern of a trematode and its host;  
a study in the evolution of physiological responses. — In: Symbiosis Sea. Columbia,  
S. C. 1974, p. 161—172.

---

THE DEPENDENCE OF ARGINASE ACTIVITY IN *TRIAENOPHORUS NODULOSUS*  
AND *DIPHYLLOBOTHRIUM LATUM* ON TEMPERATURE

A. Ja. Dubovskaya

S U M M A R Y

The effect of temperature on the arginase enzyme activity in *Triaenophorus nodulosus* and *Diphyllbothrium latum* was studied. The temperature optimum of arginase of *T. nodulosus* (definitive hosts are fishes) is at 27° while in *D. latum* it is at 57°. It has been inferred that a certain preadaptation of some enzyme properties (temperature optimum, thermostability) to a temperature regime of a definitive host takes place. Biochemical mechanisms of preadaptation of enzyme systems of helminths to temperature are discussed.

---